



ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTRUCTURA DE LA PROTEÍNA PECTATO LIASA EN LAS ESPECIES *Fragaria chiloensis* Y *Fragaria x ananassa*, Y SU INTERACCIÓN CON UN SUSTRATO MODELO.

SARA ELIZABETH CASTILLO ARENAS
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA

RESUMEN

Alrededor de todo el mundo se cultiva la frutilla comercial *Fragaria x ananassa*. En Chile existe una especie de frutilla nativa llamada *Fragaria chiloensis* que presenta mejor sabor, aroma, y resistencia a patógenos, sin embargo posee una mayor tasa de ablandamiento con respecto a la frutilla comercial. Este ablandamiento ha sido atribuido a la modificación de la estructura de la pared celular, producto de la acción de un conjunto de enzimas hidrolíticas, entre las cuales destaca la proteína pectato liasa (PL), responsable del rompimiento de los enlaces α (1-4) del ácido poligalacturónico, presente en la pared celular vegetal. Para estudiar como la PL de estas dos especies de frutilla, degradan la pared celular vegetal, se ha construido a través del modelado por homología la estructura tridimensional de la PL de *F. chiloensis* (FcPL1) y *F. x ananassa* (FaPL1). Ambos modelos presentan un plegamiento del tipo hélice β -paralela, característico de la familia de las PL. Además, por métodos de simulación del acoplamiento molecular entre los modelos y su sustrato (que presentaba iones Ca^{+2}), se pudo identificar un conjunto de interacciones, en donde destacan tres residuos de argininas putativamente involucradas en la catálisis de ambas PLs (Arg-250, Arg-253 y Arg-255) y tres residuos de aspárticos, (Asp-172, Asp-194 y Asp-198 en FcPL1, y Asp-172, Asp-198 en FaPL1), que son importantes en la coordinación del ión Ca^{+2} , el cual actúa como cofactor para la pectato liasa. El estudio de la interacción de los residuos del sitio activo, con el sustrato, sugieren que la PL de frutilla, degradaría su sustrato a través del mecanismo de β -eliminación. Esta conclusión se basa en los resultados del análisis del complejo FcPL-ácido hexagalacturónico, en donde se encontró una molécula de agua a 1,6 Å neutralizando el ácido carboxílico de un monómero del ácido hexagalacturónico, pudiendo realizar el primer paso del mecanismo de β -eliminación. Para el segundo paso, se encontró a la Arg-255 a 3.7 Å del C5 del mismo monómero, pudiendo actuar como base para la abstracción del protón de ese carbono. Y Arg-253 a 6.0 11 Å del oxígeno del enlace glicosídico α -(1-4), entre

dos monómeros del sustrato), que actuaría como ácido, protonando ese oxígeno para permitir el rompimiento del enlace glucosídico del ácido hexa-galacturónico.

El estudio de la interacción de FcPL1 con el sustrato con iones Ca^{+2} reveló la interacción con 12 residuos del modelo, en contraste a la interacción con el sustrato sin iones Ca^{+2} , donde se vieron involucrados solamente 11 residuos. La cantidad y diferencias en los residuos que interactúan con los sustratos, sugiere que existe una mejor estabilización de interacción, con el sustrato con iones calcio.